

## 脊髓损伤的细胞治疗策略

许盼盼<sup>1,2</sup> 李才<sup>1,2</sup> 吴楠<sup>1</sup> 叶雨辰<sup>1</sup> 胡捷<sup>1,2</sup> 姚文军<sup>1</sup> 金世昌<sup>1</sup> 张长春<sup>1,2</sup>

**【摘要】** 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种以脊髓长轴索被破坏为主并伴有功能障碍的神经系统疾病,其修复困难,预后不理想,SCI治疗是临床上的一个挑战。SCI发生后,损伤处可见囊性的空腔,发生胶质瘢痕、髓鞘抑制物和炎症等一系列复杂的生理过程,对SCI的治疗非常不利,是目前治疗中难以克服的问题。通过神经再生重建通路以及通过神经保护抑制继发性损伤是当前SCI治疗的两个主要策略。神经再生的应用方法有组织工程和细胞移植。对于神经保护,目前主要是应用药物疗法。细胞治疗可通过细胞移植修复SCI,具有神经保护、免疫调节、轴突再生、神经元接力形成和再髓鞘化等优点。本文将综述不同类型的细胞治疗在SCI修复中的作用。

**【关键词】** 脊髓损伤;再生挑战;细胞治疗;营养因子

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)主要由外部创伤、感染、肿瘤或发育畸形等原因引起,常导致感觉、运动和自主功能障碍,致残率和死亡率很高<sup>[1]</sup>。在严重的SCI病例中,只有不足1%的病人能够完全恢复神经功能,其中许多病人可能导致部分或完全瘫痪<sup>[2]</sup>。此外,SCI常导致一些人体系统功能障碍等严重的并发症<sup>[3]</sup>,同时也可诱发慢性疼痛综合征、抑郁等心理障碍,给病人的生理、心理和社会行为等带来严重的不良影响,长期高额的医疗费用也给病人家庭造成困扰<sup>[4]</sup>。以往SCI在很大程度上仍是姑息性治疗:预防损伤恶化、处理并发症、指导残疾的病人如何自理<sup>[5]</sup>。近年来神经生物学有了重大突破,最初的姑息治疗已经转变为更有效的干预手段。目前治疗SCI主要有两大策略——神经再生和神经保护<sup>[5]</sup>。对于神经再生,通过组织工程中的细胞移植能够帮助促进轴突和神经元的再生,使受损的神经重新连接起来,并通过再生来代替丢失的细胞。对于神经保护,通过药物治疗可预防继发性损害的发生,继而限制脊髓进一步损伤。

成熟的神经元在受损后不会再生,不能完全归因于神经元的内在缺陷,外部的抑制环境同样起着决定性作用<sup>[6]</sup>。因此,寻求一种理想、简单、安全、有效、可行的轴突再生、再髓鞘化和功能恢复的修复策略至关重要。细胞移植已成为目前SCI最有前途的治疗措施。细胞治疗的机制被广义地定义为移植细胞和宿主细胞之间的直接或间接的相互作用,这种彼此作用会对脊髓受损部位的微环境有所反应,还能够影响脊髓受损部位的微环境,并改变移植细胞和宿主细胞在环境中的相互作用,从而影响SCI后的组织或功能结果<sup>[2]</sup>。到

目前为止,不同研究小组制定的大多数实验性修复策略都侧重于改善不适宜的中枢神经系统(central nervous system, CNS)环境,通过多种细胞移植来促进轴突生长<sup>[2]</sup>。

本文从再生挑战、细胞类型及相关神经营养因子等方面综述SCI的细胞治疗方法,希望这一工作能有助于改善组合疗法的策略和SCI再生的临床应用。

### 一、文献检索策略

本文通过英文检索词“spinal cord injury”、“regeneration of challenge”、“anatomical structure”、“cell therapeutics”、“neurotrophic factors”在PubMed平台进行检索,筛选SCI细胞治疗的相关文献,共检索到文献872篇。文献纳入标准为:①已正式发表的期刊文献;②文献内容与SCI、再生挑战、解剖结构、细胞治疗和营养因子密切相关;③同类研究中质量、证据等级较高的文献;④语言为英文的文献。文献排除标准为:①文献质量、证据等级较低的文献;②非英文的文献;③无法获得全文的文献。根据纳入与排除标准最终纳入英文文献74篇(图1)。

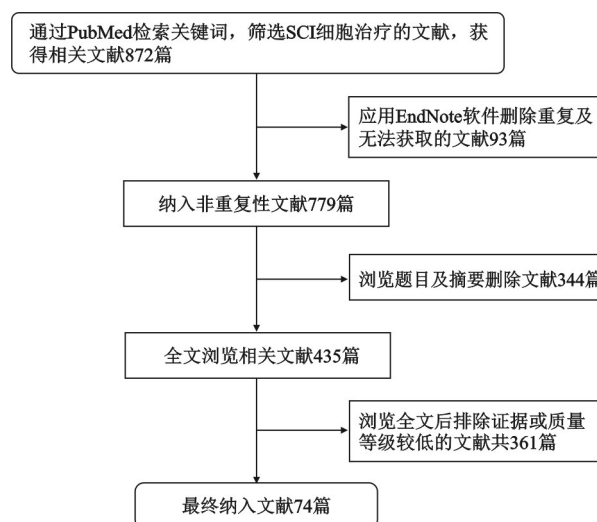


图1 文献筛选流程图

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2021.03.019

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金重点项目(KJ2019A0392);蚌埠医学院自然科学基金重点项目(BYKY1848ZD)

作者单位:1. 蚌埠医学院第一附属医院骨科实验室,安徽蚌埠 233004;2. 安徽省组织移植重点实验室,安徽蚌埠 233030

通信作者:张长春, E-mail: zccanhu@sina.com

## 二、脊髓的结构解剖

脊髓起源于大脑底部的延髓,通过枕骨大孔到达第一腰椎下缘。脊髓内部有一片左右对称形似蝴蝶的灰色区域,称为灰质区,由大量的神经元胞体、树突、少数有髓鞘的和无髓鞘的轴突、胶质细胞和毛细血管聚集在一起形成<sup>[7]</sup>。白质包裹着中央灰质,主要由少突胶质细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞组成<sup>[7]</sup>。

## 三、SCI再生面临的挑战

SCI发生后会导致囊腔和胶质瘢痕的形成。损伤初期创伤处细胞肿胀,受损的细胞通过释放有毒物质,使其他细胞继发性坏死,在病灶处形成囊腔,最后被胶质瘢痕包围<sup>[8]</sup>。损伤后产生的抑制分子和炎症同样可抑制脊髓的再生能力<sup>[9]</sup>。

### (一)囊腔形成

在损伤和坏死初期,局部形成充满液体的囊腔,可限制轴突再生和细胞迁移<sup>[10]</sup>。囊腔可扩展至其它未受损的脊髓节段,导致未受损的脊髓节段也受牵连,造成细胞死亡和功能障碍。此外,形成的囊腔相当于一个屏障,阻止营养因子的进入和再生信号的传导。然而,通过细胞移植可以抑制囊腔形成,有助于脊髓内信号传导的恢复,推进轴突的再生<sup>[11]</sup>。

### (二)胶质瘢痕和硫酸软骨素蛋白聚糖

损伤部位的反应性星形胶质细胞会产生大量的细胞外基质—硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycan, CSPG),为胶质瘢痕的主要组成物质<sup>[12]</sup>。在损伤的早期,胶质瘢痕可抑制损伤向周围组织扩散,从而达到保护周围脆弱组织的作用<sup>[13]</sup>。但是胶质瘢痕的形成无异于在病灶部位形成了一个物理和分子屏障,阻碍轴突再生<sup>[14]</sup>。目前降解CSPG最常见的实验方法之一是通过硫酸软骨素酶ABC(chondroitinase ABC, ChABC)来实现的。该酶通过裂解CSPG糖胺聚糖链来减弱CSPG的抑制活性,从而有利于功能的恢复<sup>[15]</sup>。

### (三)髓磷脂类抑制剂

经研究发现SCI后功能的恢复会受到某些髓磷脂抑制剂的抑制,目前三种主要的髓磷脂类抑制剂已被确定:轴突生长抑制因子(neurite outgrowth inhibitor, Nogo),髓鞘相关糖蛋白(myelin-associated glycoprotein, MAG)和少突胶质细胞髓鞘糖蛋白(oligodendrocyte myelin glycoprotein, OMgp)<sup>[16]</sup>。Nogo是一种膜蛋白,主要在少突胶质细胞膜上表达,当其神经元膜的受体结合时,会抑制轴突生长,造成生长锥塌陷<sup>[17]</sup>。MAG由少突胶质细胞产生,分布在包裹中枢神经轴突的髓磷脂中,是脊髓再生的抑制剂之一<sup>[16]</sup>。OMgp存在于CNS的少突胶质样细胞的轴突周围,神经元突起的生长被抑制<sup>[18]</sup>。来自不同实验室的证据表明,这三种经典的髓磷脂相关抑制因子有一个共同的受体—Nogo受体(Nogo Receptor, NgR),这三种蛋白通过与NgR结合,激活Rho信号,抑制脊髓再生<sup>[18]</sup>。

### (四)炎症

SCI必然会发生炎症反应,小胶质细胞和巨噬细胞被认为与这一反应密切相关<sup>[19]</sup>。小胶质细胞是CNS中独特的免

疫细胞,它们的急性活化具有保护作用,但慢性和不受控制的活化导致周围环境中促炎细胞因子和神经毒性分子的持续释放,导致神经毒性的后果<sup>[20]</sup>。此外,巨噬细胞的不同表型发挥着不同的作用,M1型巨噬细胞具有促炎作用,而M2型巨噬细胞具有抗炎作用<sup>[19]</sup>。但是M1巨噬细胞介导的促炎作用在SCI大鼠和小鼠模型中占主导地位<sup>[21]</sup>。

## 四、细胞治疗

细胞治疗是当前SCI治疗最具潜力的疗法之一,具有神经保护和再生的潜力。重要的是,细胞具有多种靶点和刺激反应功能,已被用于调节炎症反应、形成支架、轴突再髓鞘化、取代细胞和增强可塑性等<sup>[22]</sup>。利用这一潜在机制,学者们研究了几种不同组织来源的细胞治疗SCI。

### (一)施万细胞

施万细胞(schwann cells, SCs)通过一串串地形式缠绕在周围神经纤维的轴突上。在有髓神经纤维中,SCs形成髓鞘<sup>[23]</sup>。在SCI治疗所涉及到的细胞类型中,SCs具有最长的移植历史,被SCI治疗领域广泛认为是最有希望的再生脊髓轴突的移植细胞<sup>[23]</sup>,因为移植后SCs能在损伤部位产生多种有益因子,如增加神经营养因子、细胞粘附分子和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等<sup>[24]</sup>。

SCs在SCI治疗中可减少囊腔和胶质瘢痕形成,保护神经,促进轴突再生和髓鞘形成,能够有效改善后期功能<sup>[25]</sup>。然而,在单独使用SCs移植时,发现功能恢复并不显著,单纯将SCs移植到SCI位点,由于存活率低,治疗效果并不理想<sup>[26]</sup>。移植的SCs坏死和凋亡主要发生在早期,这可能和局部微环境的损害、低氧水平、M1型巨噬细胞介导的炎症反应和细胞介导的免疫反应有关<sup>[27]</sup>。为了克服这些缺陷,人们发明了一些组合策略。例如,Moradi等<sup>[28]</sup>证明了利用BD Pura-Matrix多肽水凝胶结合SCs可以促进SCs的扩散和减少星形胶质细胞的数量,促进功能的恢复。结合神经营养因子和ChABC,SCs移植对SCI的修复作用更显著<sup>[29]</sup>。

### (二)嗅鞘细胞

嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cells, OECs)移植被认为是促进SCI后轴突再生和功能改善的最有希望的措施之一。OECs可通过鼻黏膜和嗅球组织活检取得<sup>[30]</sup>。此外,OECs在为轴突再生创造积极的微环境、抑制胶质瘢痕形成和促进轴突再髓鞘化、重建神经组织以及消除神经元轴突释放的抑制因子扩散等方面具有巨大潜力<sup>[31]</sup>。

实验研究表明,SCI模型移植了OECs后,与对照组相比,接受OECs的大鼠术后功能恢复更为显著<sup>[32]</sup>。Radtke等<sup>[30]</sup>将OECs移植到大鼠脊髓横断模型中,证明OECs移植提供了营养支持和桥接损伤部位,使轴突再生和髓鞘化,改善功能预后。与SCs相比,OECs能够穿透胶质瘢痕这个屏障,功能预后更好<sup>[33]</sup>。虽然许多研究报告称OECs有助于改善神经功能,但治疗方法仍不一致,这种差异可能源于移植到受损部位之前不同的OECs群。

### (三)激活巨噬细胞

免疫系统在保护身体组织以及修复受损组织中发挥重

要作用。此外,研究表明炎症反应可以同时具有促炎和抗炎成分<sup>[34]</sup>。促炎表型参与对抗感染、清除死亡和垂死的细胞以及修复伤口。抗炎表型与早期炎症反应密切相关<sup>[20]</sup>。

Kigerl 等<sup>[21]</sup>的研究表明充分活化的巨噬细胞对 SCI 治疗有积极作用。例如 M2 型巨噬细胞移植在不同的动物模型中可以支持神经保护和再生<sup>[19]</sup>。已有研究表明,激活巨噬细胞的移植可减少髓鞘相关糖蛋白,促进轴突再生和髓鞘形成<sup>[35]</sup>。另一项研究表明,神经干/前体细胞移植可降低经典 M1 型巨噬细胞的比例,改善受损脊髓功能<sup>[36]</sup>。为了研究巨噬细胞对球形细胞脑白质营养不良(globoid cell leukodystrophy, GLD)的影响,Kondo 等<sup>[35]</sup>通过杂交获得巨噬细胞缺陷的小鼠模型,实验结果表明巨噬细胞在 GLD 中的整体作用是促进髓鞘化、延长小鼠寿命以及减轻神经症状。

#### (四)成纤维细胞

成纤维细胞是组成结缔组织和分泌 ECM 的细胞。这些细胞并不难获得,而且在培养过程中很容易生长,这使得它们在细胞治疗中具有很大的吸引力<sup>[37]</sup>。然而,除了胶质瘢痕外,SCI 后形成的瘢痕也可以是纤维化瘢痕。SCI 后成纤维细胞 ECM 分子的表达增加,分泌过度并沉积形成纤维化瘢痕,限制了轴突再生,CSPG 就是这类 ECM 分子中的一种。但与胶质瘢痕相比,纤维化瘢痕对轴突的抑制作用不强<sup>[38]</sup>。目前在实验室中使用到的成纤维细胞基因已被修饰改良或与其他治疗策略联合使用。

研究发现,改良后的自体成纤维细胞分泌的脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和神经营养因子-3(neurotrophin-3, NT-3)可以促进猫 SCI 损伤部位少突胶质细胞增殖,轴突髓鞘形成以及行走功能的恢复<sup>[39]</sup>。此外,负载有成纤维细胞的 Wnt 海藻酸盐支架的移植被认为能促进 SCI 后轴突再生和功能恢复<sup>[40]</sup>。另一方面,通过体外基因治疗,将 BDNF、神经营养因子(nerve growth factor, NGF)、NT-3 经修饰的成纤维细胞导入早期脊髓受损部位,证实对成年大鼠模型轴突再生、病变腔减小、脊髓功能恢复有显著作用<sup>[41]</sup>。

#### (五)神经干细胞

神经干细胞(neural stem cells, NSCs)是一种具有自我更新能力的多能干细胞,可从脑海马室下区或脊髓中央管分离得到<sup>[42]</sup>。NSCs 在脊髓损伤的细胞疗法中具有重要地位,NSCs 能够分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞,可替代损伤部位受损细胞<sup>[43]</sup>,同时还可分泌多种神经营养分子,减少细胞死亡,促进脊髓的恢复。此外,NSCs 还能减少病变体积,抑制瘢痕组织形成,具有抗炎作用以及可促进电生理和运动功能恢复<sup>[43]</sup>。

SCI 后,损伤部位的微环境可促使 NSCs 向星形胶质细胞分化,提示植入前 NSCs 可能需要进行预分化<sup>[44]</sup>。与 NSCs 不同的是,神经前体细胞可以直接分化为实验所需要的神经元。实验结果表明,混合前体细胞填满空腔,修复受损部位<sup>[45]</sup>。此外,将经修饰改造表达绿色荧光蛋白的 NSCs (green fluorescent protein-neural stem cells, GFP-NSCs)结合生

长因子移植到大鼠脊髓横断模型中,实验结果显示,GFP-NSCs 可分化成多种细胞,其中包括神经元,其轴突形成丰富的突触,利于受损脊髓恢复<sup>[46]</sup>。

#### (六)胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)具有无限增殖和分化成多种细胞的能力,体内外实验都证明了 ESCs 能够分化成特定的神经谱系,包括神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞<sup>[47]</sup>。移植后,这些干细胞不仅能够补充丢失的细胞,还可为轴突再生提供营养支持,使存活的轴突再髓鞘化,并传递免疫调节、抗抑制因子,形成有助于功能恢复的中继回路<sup>[48]</sup>。

Xie 等<sup>[47]</sup>在体外培养 4 d 的胚体中加入维甲酸,对神经前体细胞的鼠 ESCs(mouse ESCs, mESCs)进行预分化。他们的研究表明,电纺纤维支架与预分化前神经祖细胞 mESCs 的结合不仅促进了神经元的分化,而且限制了胶质瘢痕的形成。Iwai 等<sup>[49]</sup>将 ESCs 源性的神经干/前体细胞(ESC-derived neural stem/progenitor cells, ESC-NS/PCs)移植到损伤 14 d 后的 C5 脊髓挫伤模型中,与对照组相比,植入 ESC-NS/PCs 可保留损伤部位的组织,促进轴突再生和血管生成,这些细胞治疗使运动功能恢复且无致瘤性。

#### (七)骨髓间充质干细胞

实验中使用的大部分骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)来自于人类或啮齿类动物。由于它们易于提取、培养,可用于自体移植,因此被广泛应用<sup>[50]</sup>。最重要的是, BMSCs 已被证明可以减少瘢痕组织和囊腔形成,保护轴突,增加对髓鞘的保留,最终使 SCI 动物模型的功能进一步恢复<sup>[50]</sup>。此外, BMSCs 还可以诱导巨噬细胞向 M2 表型转化,发挥抗炎作用,减轻 SCI 急性炎症反应,改善功能预后<sup>[50]</sup>。

分泌神经营养因子的 BMSCs 结合支架可解决急性和继发性损伤的问题,包括神经元缺失、轴突断裂、胶质瘢痕屏障和炎症反应<sup>[51]</sup>。NT-3 基因修饰的 BMSCs 可抑制瘢痕形成,促进神经再生和运动功能恢复<sup>[52]</sup>。Zhao 等<sup>[53]</sup>研究报道了能够表达大脑多巴胺神经营养因子(cerebral dopamine neurotrophic factor, CDNF)的转基因 BMSCs 和正常的 BMSCs 治疗 SCI 的对比研究,表达 CDNF 的 BMSCs 在病变部位具有很强的抗炎作用,通过抑制 SCI 后的炎症反应,减少促炎细胞因子 PGE2 和 IL-1 $\beta$  的产生,从而促进了运动功能和受损脊髓的恢复。

#### (八)诱导多能干细胞

诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是通过将 Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 等基因转导到小鼠或人的成纤维细胞重新编程获得,由于不涉及伦理问题,可能成为人类 SCI 治疗的首选细胞来源<sup>[54]</sup>。此外, iPSCs 具有分化为神经前体细胞、少突胶质细胞、星形胶质细胞、神经元和间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的能力<sup>[55]</sup>。这些细胞可以促进轴突再生、桥接病腔,并通过替换缺失的细胞或调节损伤部位的微环境而产生功能恢复<sup>[56]</sup>。

在大鼠脊髓中度挫伤模型中植入 iPSCs 源性少突胶质细胞祖细胞 (iPS-derived oligodendrocyte progenitors, iPS-OPs) 可减少空腔和瘢痕形成, 减少小胶质细胞的数量<sup>[10]</sup>。此外, 来自 iPSCs 的 NSCs 在小鼠脊髓椎板切除术模型中显示出再髓鞘化的能力, 并显著改善运动功能<sup>[57]</sup>。后续研究发现人 iPSCs 分化的 NSCs 在损伤部位分泌神经营养因子, 血管生成、髓鞘形成和重建神经通路, 长期未见肿瘤形成。但是, iPSCs 也有其缺陷, 如由人工诱导基因引起的遗传/表观遗传异常和肿瘤形成, 这些都需要在临床使用前加以解决<sup>[58]</sup>。

#### 五、用于细胞治疗的神经营养因子

神经营养因子被认为是许多移植细胞的补充, 可进一步优化细胞疗法, 在移植的细胞死亡后仍可发挥神经保护的作用<sup>[59]</sup>。通过移植相应细胞或基因过表达神经营养因子的细胞, 这些机制都有助于增强细胞移植的功能。

目前神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 在 SCI 治疗中被广泛应用。然而, NGF 也有其缺点, 如理化性质不稳定等<sup>[60]</sup>。有研究表明 NGF 在周围神经系统 (peripheral nervous system, PNS) 神经元的存活和成熟中发挥重要作用, 有报道称 NGF 可改变神经胶质表型, 提高神经元的存活率, 促进轴突再次生长<sup>[60]</sup>。此外, NGF 也有局限性, NGF 在脊髓中的表达诱导痛觉轴突, 引起痛觉过敏, 可导致严重的疼痛<sup>[60]</sup>。有研究<sup>[61]</sup>报道慢病毒介导的水通道蛋白-4 抑制可以增加 NGF 的表达, 最终改善了 SCI 大鼠的运动功能。

BDNF 在 SCI 后的不同神经元群中具有轴突再生、神经发生保护、再髓鞘化、突触再次形成以及突触传递等功能<sup>[62]</sup>。研究表明, 将 BDNF 和 NT-3 基因导入 SCI 部位可促进局部轴突生长, 并可显著减少远端轴突断裂引起的大锥体神经元萎缩<sup>[63]</sup>。在啮齿类动物模型的进一步研究表明, 分泌 BDNF 的 MSCs 将进一步促进 SCI 后的功能恢复<sup>[64]</sup>。然而, 还有研究表明<sup>[65]</sup> BDNF 增加皮质区域脊髓运动神经元的存活, 但不促进皮质脊髓束 (corticospinal tract, CST) 轴突的生长。

NT-3 在发育中的脊髓运动神经元中的表达显著增加。然而, 由于 NT-3 的蛋白质含量较低, 它的鉴定很具有挑战性<sup>[66]</sup>。此外, NT-3 可以促进神经元的存活<sup>[67]</sup>。将表达 NT-3 的细胞移植到受损部位表明 CST 在短距离内生长<sup>[68]</sup>。使用 NT-3 的另一个优点是它绕过了与疼痛相关的靶区, 因此不会引起疼痛或痉挛等副作用。

研究证明, 在小鼠模型中植入睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF), 可对 CNS 和 PNS 起到神经保护和修复的作用<sup>[69]</sup>。此外, CNTF 可以促进神经元的发育和断裂轴突的存活率<sup>[70]</sup>。多项研究表明, CNTF 联合多种细胞治疗比单独使用 CNTF 更有效, 因此, CNTF 对受损神经元的治疗可能需要其他类型细胞的参与<sup>[71]</sup>。如移植少突胶质前体细胞联合 CNTF 可促进 SCI 后的髓鞘形成和功能恢复<sup>[72]</sup>。

成纤维母细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 在星形胶质细胞和神经元中均有表达, 参与刺激轴突生长, 促进血管形成, 发挥炎症细胞的抗炎作用和神经保护作用<sup>[34]</sup>。Le 等<sup>[73]</sup>将 bFGF 植入胶原/明胶海绵支架中, 然后将其植入失

活的皮肤, 实验结果表明加速了血管的生成。

经研究证明胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF) 可促进 SCI 后 CNS 和 PNS 的轴突再生<sup>[74]</sup>。此外, 研究小组通过将人脐带间充质干细胞 (human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSCs) 移植到丝素/藻酸盐/GDNF (silk fibroin/alginate/GDNF, SF/AGs/GDNF) 支架来模拟神经组织, 结果显示, hUCMSCs-SF/AGs/GDNF 能显著提高神经元的存活率, 促进神经元的分化<sup>[74]</sup>。

#### 六、结论与未来方向

(一) 细胞疗法是一种很有前途的治疗神经再生的方法, 已成为广泛研究的热点。细胞从分子到组织在不同的水平发挥重要的作用, 如替换丢失的神经元和神经胶质细胞、分泌神经营养因子和抗炎细胞因子, 刺激组织保留和血管再形成, 重建神经通路, 限制和填补损伤后的囊腔, 促进轴突再生和再髓鞘化等。

(二) 根据细胞的类型、时间和培养条件, 即使是相似的细胞, 最终结果也会有显著差异。另一方面, 关于移植干预时间方面, 几乎所有的研究都是在急性和亚急性情况下进行的, 而对于慢性治疗研究甚少。

(三) 每种细胞的移植都有特定的风险, 移植后的肿瘤形成是一个主要的风险。可以通过将细胞移植到寿命较长的大型动物上, 通过长时间的观察去评估其安全性。移植的另一个风险是增加了感染的概率。颈椎处的 SCI 发生后, 全身免疫功能明显降低, 病人可出现严重的免疫抑制。因此, 需要全面了解细胞治疗的各种风险, 以确保减少肿瘤和感染的可能性。

(四) SCI 疗法在未来临床实践中的应用可能包括多种策略的结合。例如, 两个或更多的细胞可以同时移植到 SCI 中去治疗。常见的有分泌营养因子的细胞与可以弥补结构功能损伤的细胞相结合。除了细胞外, 药物递送、基因治疗和生物材料也可以帮助促进 SCI 后的轴突再生。结合不同的细胞治疗策略, 未来的实验将在脊髓修复方面取得更大的成功。

#### 参 考 文 献

- [1] Singh A, Tetreault L, Kalsi-Ryan S, et al. Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury [J]. *Clin Epidemiol*, 2014, 6: 309-331.
- [2] Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, et al. Cell transplantation therapy for spinal cord injury [J]. *Nat neurosci*, 2017, 20(5): 637-647.
- [3] Silva NA, Sousa N, Reis RL, et al. From basics to clinical: a comprehensive review on spinal cord injury [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 114: 25-57.
- [4] Nasirinezhad F, Hosseini M, Salari S. Anti-allodynic efficacy of NMDA antagonist peptide and noradrenaline alone and in combination in rodent neuropathic pain model [J]. *Korean J Pain*, 2015, 28(2): 96-104.
- [5] Wang XJ, Peng CH, Zhang S, et al. Polysialic acid-based micelles promote neural regeneration in spinal cord injury therapy [J]. *Nano Lett*, 2019, 19(2): 829-838.
- [6] Jones LL, Sajed D, Tuszynski MH. Axonal regeneration through regions of chondroitin sulfate proteoglycan deposition after spinal

- cord injury: a balance of permissiveness and inhibition [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(28): 9276-9288.
- [7] Schmidt CE, Leach JB. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration [J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2003, 5: 293-347.
- [8] Burda JE, Sofroniew MV. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease [J]. *Neuron*, 2014, 81(2): 229-248.
- [9] Prang P, Müller R, Eljaouhari A, et al. The promotion of oriented axonal regrowth in the injured spinal cord by alginate-based anisotropic capillary hydrogels [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(19): 3560-3569.
- [10] All AH, Gharibani P, Gupta S, et al. Early intervention for spinal cord injury with human induced pluripotent stem cells oligodendrocyte progenitors [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0116933.
- [11] Kanno H, Pressman Y, Moody A, et al. Combination of engineered schwann cell grafts to secrete neurotrophin and chondroitinase promotes axonal regeneration and locomotion after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(5): 1838-1855.
- [12] Schachtrup C, Ryu JK, Helmrick MJ, et al. Fibrinogen triggers astrocyte scar formation by promoting the availability of active TGF-beta after vascular damage [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(17): 5843-5854.
- [13] Faulkner JR, Herrmann JE, Woo MJ, et al. Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(9): 2143-2155.
- [14] Bradbury EJ, Moon LD, Popat RJ, et al. Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury [J]. *Nature*, 2002, 416(6881): 636-640.
- [15] Fisher D, Xing B, Dill J, et al. Leukocyte common antigen-related phosphatase is a functional receptor for chondroitin sulfate proteoglycan axon growth inhibitors [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(40): 14051-14066.
- [16] Cafferty WB, Duffy P, Huebner E, et al. MAG and OMgp synergize with Nogo-A to restrict axonal growth and neurological recovery after spinal cord trauma [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(20): 6825-6837.
- [17] Kottis V, Thibault P, Mikol D, et al. Oligodendrocyte-myelin glycoprotein (OMgp) is an inhibitor of neurite outgrowth [J]. *J Neurochem*, 2002, 82(6): 1566-1569.
- [18] Lee JK, Geoffroy CG, Chan AF, et al. Assessing spinal axon regeneration and sprouting in Nogo-, MAG-, and OMgp-deficient mice [J]. *Neuron*, 2010, 66(5): 663-670.
- [19] Papa S, Caron I, Erba E, et al. Early modulation of pro-inflammatory microglia by minocycline loaded nanoparticles confers long lasting protection after spinal cord injury [J]. *Biomaterials*, 2016, 75: 13-24.
- [20] David S, López-Vales R, Wee Yong V. Harmful and beneficial effects of inflammation after spinal cord injury: potential therapeutic implications [J]. *Handb Clin Neurol*, 2012, 109: 485-502.
- [21] Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, et al. Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(43): 13435-13444.
- [22] Vismara I, Papa S, Rossi F, et al. Current options for cell therapy in spinal cord injury [J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(9): 831-849.
- [23] Lavdas AA, Chen J, Papastefanaki F, et al. Schwann cells engineered to express the cell adhesion molecule L1 accelerate myelination and motor recovery after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2010, 221(1): 206-216.
- [24] Bunge MB, Wood PM. Realizing the maximum potential of schwann cells to promote recovery from spinal cord injury [J]. *Handb Clin Neurol*, 2012, 109: 523-540.
- [25] Liu S, Sandner B, Schackel T, et al. Regulated viral BDNF delivery in combination with schwann cells promotes axonal regeneration through capillary alginate hydrogels after spinal cord injury [J]. *Acta Biomater*, 2017, 60: 167-180.
- [26] Hill CE, Hurtado A, Blits B, et al. Early necrosis and apoptosis of Schwann cells transplanted into the injured rat spinal cord [J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 26(6): 1433-1445.
- [27] Pearse DD, Sanchez AR, Pereira FC, et al. Transplantation of Schwann cells and/or olfactory ensheathing glia into the contused spinal cord: Survival, migration, axon association, and functional recovery [J]. *Glia*, 2007, 55(9): 976-1000.
- [28] Moradi F, Bahktiari M, Joghataei MT, et al. BD PuraMatrix peptide hydrogel as a culture system for human fetal Schwann cells in spinal cord regeneration [J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90(12): 2335-2348.
- [29] Deng LX, Deng P, Ruan Y, et al. A novel growth-promoting pathway formed by GDNF-overexpressing schwann cells promotes propriospinal axonal regeneration, synapse formation, and partial recovery of function after spinal cord injury [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(13): 5655-5667.
- [30] Radtke C, Aizer AA, Agulian SK, et al. Transplantation of olfactory ensheathing cells enhances peripheral nerve regeneration after microsurgical nerve repair [J]. *Brain Res*, 2009, 1254: 10-17.
- [31] Richter MW, Fletcher PA, Liu J, et al. Lamina propria and olfactory bulb ensheathing cells exhibit differential integration and migration and promote differential axon sprouting in the lesioned spinal cord [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(46): 10700-10711.
- [32] Kubasak MD, Jindrich DL, Zhong H, et al. OEG implantation and step training enhance hindlimb -stepping ability in adult spinal transected rats [J]. *Brain*, 2008, 131(Pt 1): 264-276.
- [33] Franklin RJ, Barnett SC. Do olfactory glia have advantages over Schwann cells for CNS repair? [J]. *J Neurosci Res*, 1997, 50(5): 665-672.
- [34] Chen J, Wang Z, Zheng Z, et al. Neuron and microglia/macrophage-derived FGF10 activate neuronal FGFR2/PI3K/Akt signaling and inhibit microglia/macrophages TLR4/NF-κB-dependent neuroinflammation to improve functional recovery after spinal cord injury [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3090.
- [35] Kondo Y, Adams JM, Vanier MT, et al. Macrophages counteract demyelination in a mouse model of globoid cell leukodystrophy [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(10): 3610-3624.
- [36] Cusimano M, Bizziato D, Brambilla E, et al. Transplanted neural stem/precursor cells instruct phagocytes and reduce secondary tissue damage in the injured spinal cord [J]. *Brain*, 2012, 135(Pt 2): 447-460.
- [37] Wang W, Liu R, Su Y, et al. MicroRNA-21-5p mediates TGF-beta-regulated fibrogenic activation of spinal fibroblasts and the formation of fibrotic scars after spinal cord injury [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(2): 178-188.
- [38] Shearer MC, Fawcett JW. The astrocyte/meningeal cell interface- a barrier to successful nerve regeneration? [J]. *Cell Tissue Res*, 2001, 305(2): 267-273.
- [39] Krupka AJ, Fischer I, Lemay MA. Transplants of neurotrophin-producing autologous fibroblasts promote recovery of treadmill stepping in the acute, sub-chronic, and chronic spinal cat [J]. *J Neurotrauma*, 2017, 34(10): 1858-1872.
- [40] Park JH, Min J, Baek SR, et al. Enhanced neuroregenerative effects by scaffold for the treatment of a rat spinal cord injury with Wnt3a-secreting fibroblasts [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2013, 155(5): 809-816.
- [41] Jones LL, Sajed D, Tuszynski MH. Axonal regeneration through regions of chondroitin sulfate proteoglycan deposition after spinal

- cord injury: a balance of permissiveness and inhibition[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(28): 9276-9288.
- [42] Emgård M, Piao J, Aineskog H, et al. Neuroprotective effects of human spinal cord-derived neural precursor cells after transplantation to the injured spinal cord[J]. *Exp Neurol*, 2014, 253: 138-145.
- [43] Cheng ZJ, Bosco DB, Sun L, et al. Neural stem cell-conditioned medium suppresses inflammation and promotes spinal cord injury recovery[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(3): 469-482.
- [44] Xu B, Zhao Y, Xiao Z, et al. A dual functional scaffold tethered with EGFR antibody promotes neural stem cell retention and neuronal differentiation for spinal cord injury repair[J]. *Adv Health Mater*, 2017, 6(9): 160-279.
- [45] Lepore AC, Fischer I. Lineage-restricted neural precursors survive, migrate, and differentiate following transplantation into the injured adult spinal cord[J]. *Exp Neurol*, 2005, 194(1): 230-242.
- [46] Lu P, Wang Y, Graham L, et al. Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury[J]. *Cell*, 2012, 150(6): 1264-1273.
- [47] Xie J, Willerth SM, Li X, et al. The differentiation of embryonic stem cells seeded on electrospun nanofibers into neural lineages[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(3): 354-362.
- [48] Zhang YW, Denham J, Thies RS. Oligodendrocyte progenitor cells derived from human embryonic stem cells express neurotrophic factors[J]. *Stem Cells Dev*, 2006, 15(6): 943-952.
- [49] Iwai H, Shimada H, Nishimura S, et al. Allogeneic neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells promote functional recovery after transplantation into injured spinal cord of nonhuman primates[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(7): 708-719.
- [50] Nakajima H, Uchida K, Guerrero AR, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells promotes an alternative pathway of macrophage activation and functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(8): 1614-1625.
- [51] Günther MI, Weidner N, Müller R, et al. Cell-seeded alginate hydrogel scaffolds promote directed linear axonal regeneration in the injured rat spinal cord[J]. *Acta Biomater*, 2015, 27: 140-150.
- [52] Wang LJ, Zhang RP, Li JD. Transplantation of neurotrophin-3-expressing bone mesenchymal stem cells improves recovery in a rat model of spinal cord injury[J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 156(7): 1409-1418.
- [53] Zhao H, Cheng L, Du X, et al. Transplantation of cerebral dopamine neurotrophic factor transduced BMSCs in contusion spinal cord injury of rats: promotion of nerve regeneration by alleviating neuroinflammation[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1): 187-199.
- [54] Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2007, 448(7151): 313-317.
- [55] Qin C, Guo Y, Yang DG, et al. Induced pluripotent stem cell transplantation improves locomotor recovery in rat models of spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(5): 1835-1852.
- [56] Amemori T, Ruzicka J, Romanyuk N, et al. Comparison of intraspinal and intrathecal implantation of induced pluripotent stem cell-derived neural precursors for the treatment of spinal cord injury in rats[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 257.
- [57] Salewski RP, Mitchell RA, Li L, et al. Transplantation of induced pluripotent stem cell-derived neural stem cells mediate functional recovery following thoracic spinal cord injury through remyelination of axons[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(7): 743-754.
- [58] Nori S, Okada Y, Nishimura S, et al. Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition[J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(3): 360-373.
- [59] Enzmann GU, Benton RL, Talbott JF, et al. Functional considerations of stem cell transplantation therapy for spinal cord repair[J]. *J Neurotrauma*, 2006, 23(3-4): 479-495.
- [60] Zhao YZ, Jiang X, Xiao J, et al. Using NGF heparin-polyoxamer thermosensitive hydrogels to enhance the nerve regeneration for spinal cord injury[J]. *Acta Biomater*, 2016, 29: 71-80.
- [61] Chen J, Zeng X, Li S, et al. Lentivirus-mediated inhibition of AQP4 accelerates motor function recovery associated with NGF in spinal cord contusion rats[J]. *Brain Res*, 2017, 1669: 106-113.
- [62] Kovalchuk Y, Holthoff K, Konnerth A. Neurotrophin action on a rapid timescale[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2004, 14(5): 558-563.
- [63] Brock JH, Rosenzweig ES, Blesch A, et al. Local and remote growth factor effects after primate spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(29): 9728-9737.
- [64] Gransee HM, Zhan WZ, Sieck GC, et al. Localized delivery of brain-derived neurotrophic factor-expressing mesenchymal stem cells enhances functional recovery following cervical spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2015, 32(3): 185-193.
- [65] Lu P, Blesch A, Tuszynski MH. Neurotrophism without neurotrophism: BDNF promotes survival but not growth of lesioned corticospinal neurons[J]. *J Comp Neurol*, 2001, 436(4): 456-470.
- [66] Hohn A, Leibrock J, Bailey K, et al. Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family[J]. *Nature*, 1990, 344(6264): 339-341.
- [67] Bloch J, Fine EG, Bouche N, et al. Nerve growth factor- and neurotrophin-3-releasing guidance channels promote regeneration of the transected rat dorsal root[J]. *Exp Neurol*, 2001, 172(2): 425-432.
- [68] Weishaupt N, Mason AL, Hurd C, et al. Vector-induced NT-3 expression in rats promotes collateral growth of injured corticospinal tract axons far rostral to a spinal cord injury[J]. *Neuroscience*, 2014, 272: 65-75.
- [69] Leibinger M, Müller A, Andreadaki A, et al. Neuroprotective and axon growth-promoting effects following inflammatory stimulation on mature retinal ganglion cells in mice depend on ciliary neurotrophic factor and leukemia inhibitory factor[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(45): 14334-14341.
- [70] Del Gaizo DJ, Regan CM, Graff RD, et al. The effect of methylprednisolone intravenous infusion on the expression of ciliary neurotrophic factor in a rat spinal cord injury model[J]. *Spine J*, 2013, 13(4): 439-442.
- [71] Abbaszadeh HA, Tiraihi T, Noori-Zadeh A, et al. Human ciliary neurotrophic factor-overexpressing stable bone marrow stromal cells in the treatment of a rat model of traumatic spinal cord injury[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(7): 912-921.
- [72] Cao Q, He Q, Wang Y, et al. Transplantation of ciliary neurotrophic factor-expressing adult oligodendrocyte precursor cells promotes remyelination and functional recovery after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(8): 2989-3001.
- [73] Le TM, Morimoto N, Mitsui T, et al. The sustained release of basic fibroblast growth factor accelerates angiogenesis and the engraftment of the inactivated dermis by high hydrostatic pressure[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0208658.
- [74] Jiao G, Lou G, Mo Y, et al. A combination of GDNF and hUCMSC transplantation loaded on SF/AGs composite scaffolds for spinal cord injury repair[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 74: 230-237.

(收稿日期: 2020-07-24)

(本文编辑: 龚哲妮)

## 引用格式

许盼盼, 李才, 吴楠, 等. 脊髓损伤的细胞治疗策略[J]. *骨科*, 2021, 12(3): 287-292. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2021.03.019.